

**TAVŞANLARDA DENEYSEL OLUŞTURULAN  
KORNEA ALKALİ YANIKLARININ SAĞALTIMINDA  
BAZI ANTİKOLLAJENAZİK İLAÇLARIN KARŞILAŞTIRILMASI  
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR\***

Murat ŞAROĞLU\*\*

Nuri ARIKAN\*\*

**Researches on the comparison of various anticollagenase drugs in the treatment  
of experimentally induced corneal alkali burns in rabbits**

**Summary:** In this study, alkali damage was created using 2 N NaOH in a total of 80 eyes belonging to 40 New Zealand rabbits. Two different models of alkali damage were obtained, of which one was in the whole of the ocular surface in the left eye and only in the cornea in the right eye of the subjects. Each model was separated into 4 groups of 10 subjects and the first groups were left as control groups. In order to restrain the collagenase enzyme, polysulphate glycosaminoglycan was administered locally to the second groups, doxycycline was given per os to the third groups and EDTA was administered locally to the fourth groups. To prevent infection, antibiotic pomade was used twice a day in all subjects. Drug administration was continued until day 21. The clinical changes seen in the subject were observed for 21 days. On days 0, 7, 14 and 21 the clinical appearance of the subjects were photographed and the depth of the cornea lesions were evaluated.

The Schirmer tear test was applied to all subjects on days 0, 7, 14, 21. Findings were statistically evaluated. Samples taken from the cornea, conjunktiva and third eyelid of the subjects, which were destroyed on day 21, were histopathologically examined. A decrease in the amount of tears on day 7 and an increase, which caused the tear amount to lose its statistical meaning, on days 14 and 21 was determined, which had statistical significance only in the PSGAG and EDTA groups.

According to the results of our study, it was seen that PSGAG, which we assumed could have an anticollagenase effect, did not have an adequate anticollagenase effect and that doxycycline, which is known to have an anticollagenase effect, was not effective enough on the ocular surfaces when administered per os in accidents with alkali. In the model where primary alkali damage was created in the corneal surface, it was seen that in comparison to the control group, EDTA's treatment effect was very significant ( $p < 0.01$ ). Following histopathological examination, it was determined that the most severe destruction had been made in the model with damage to the whole of the ocular surface and to the control groups. In the light of the clinical and histopathological findings which were obtained, it was determined that alkali burns and collagenase activity of the ocular surface developed and that in deep progressive cornea ulcers EDTA proved to be an anticollagenase substance which supported the treatment

**Key Words:** Cornea, alkali, rabbit, anticollagenase.

\* Birinci yazarın doktora tezinden derlenmiştir.

\*\* İ.Ü. Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, 34851 Avcılar, İstanbul.

**Özet:** Bu çalışmada 2 N NaOH ile alkali hasarı oluşturulan 40 adet Yeni Zelanda tavşanının toplam 80 gözünde polisülfat glikozaminoglikan (PSGAG), doksisisiklin ve Na EDTA'nın antikollajenazik ve klinik etkinliği araştırıldı. Çalışma sonuçlarımıza göre, antikollajenazik etkinliği olabileceğini düşündüğümüz PSGAG'nin yeterli antikollajenazik etkiye sahip olmadığı, antikollajenazik etkinliği olduğu bilinen doksisisiklinlerin peros uygulanmasının oküler yüzeyde yeterli etki sağlayamadığı tespit edildi. Kornea yüzeyinde primer alkali hasarı oluşturulan modelde, EDTA'nın kontrol grubuna göre sağaltımda çok anlamlı ( $p < 0.01$ ) etkili olduğu gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Kornea, alkali, tavşan, antikollajenaz.

## Giriş

Alkali yanığına neden olan kimyasal maddeler; genellikle amonyum hidroksit ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ), potasyum hidroksit ( $\text{KOH}$ ), magnezyum hidroksit ( $\text{MgOH}_2$ ) ve kalsiyum hidroksit ( $\text{CaOH}_2$ ) (1, 9, 12, 18, 20, 23, 25, 30). Bunlardan magnezyum hidroksit havai fişeklerin, diğerleri temizlik malzemelerinin yapısında bulunmaktadır (6). Kimyasal kazadan sonra gözde şekillenen hasarın şiddeti; temasın olduğu bölgeye, etkime süresine, etkileyen kimyasal ajana ve penetrasyonun derecesine bağlıdır (1, 9, 11, 12, 20, 23, 25, 26, 31). Alkaliler artı yüklü bir katyon ve hidroksil gruplarının birleşiminden oluşur. Hidroksil molekülü ( $\text{OH}$ ), hücre membranlarının yağ asitli bölümlerinde sabunlaşma yaparak hücre yıkımlanması ve hücre ölümüne neden olur (1, 9, 20, 23, 26). Katyonlar alkalinin penetrasyonunda etkilidir. Bunlar, stromal kollajen ve glikozaminoglikanların karboksil gruplarıyla ( $\text{COOH}$ ) tepkimeye girer. Glikozaminoglikanların hidrasyonu, stromada bulanıklığa yol açar. Kollajen fibrillerin hidrasyonu da, bu yapılar da kalınlaşma ve kısalmaya neden olur (1, 9, 20, 23, 26). Penetrasyonun derecesine bağlı olarak, kornea ve konjunktiva epiteliyumu, bazal membran, stroma keratositleri, stromadaki sinir uçları, endotelium, lens epiteliyumu, konjunktiva, episklera, iris, ve korpus siliare'nin vasküler epiteliyumu hasara uğrayabilir (1, 9, 20, 23, 25, 31).

Bulbar konjunktivanın nekrozu sonucu, lökositlerin bölgeye infiltre olması, oküler yüzey yangısının sürmesine neden olur. Limbusta vasküler dokuların hasar görmesinden kaynaklanan işemik nekroz ve buna bağlı olarak vasküler kollajenaz inhibitörlerinin azalması, kornea ülseri ve perforasyon oluşumunda etkilidir (1, 23).

Alkali hasarın Goblet hücre popülasyonu üzerine etkisi belirsizdir. Bazı çalışmalarda Goblet hücre popülasyonunda azalma gözlenmişken, bazılarında Goblet hücre popülasyonunda beklenmedik şekilde artma saptanmıştır (23).

Alkali hasardan sonra, genellikle stromada ülser şekillenmektedir. Kalıcı epitelyal defektler, gözyaşı eksikliği, oküler yangı, proteolitik enzimlerin salgılanması, antioksidan eksikliği, hipoestezi, kollajen sentezinin sekteye uğraması gibi pek çok faktör, stromal ülser oluşumunda etkilidir. Proteolitik bir enzim olan kollajenazın, bu hususta büyük rol oynadığı bilinmektedir. Epitelyum, fibroblastlar ve PMN lökositler, kollajenaz sentezleyebilir. Alkali yanık sonrası kollajenaz aktivitesi, ülserli kornealarda saptan-



miştir. Yanıktan sonra 8 saat içinde gözlenmeye başlayan kollajenaz, 14-21. günler arasında maksimum düzeyde aktivite gösterir (23).

Kimyasal kazaların medikal sağaltımında, 4 temel amaç vardır (1, 20, 23). Bunlar; kimyasal ajanın uzaklaştırılması, reepitelizasyonun sağlanması, keratositler aracılığıyla kollajen dokunun yeniden oluşturulmasını sağlayarak, yıkımlayıcı matris metalloproteinaz (MMP) enzimlerini baskılanması ve yangının kontrolüdür. Bunlardan MMP enzimlerinin baskılanması, tedavide önemli bir yer tutmaktadır ve araştırmacıların ilgisini çekmiştir.

MMP'lar korneanın kendi hücreleri tarafından salgılanabileceği gibi, alkali hasar sonrası korneaya yerleşen yangı hücreleri (makrofajlar ve PMN lökositler) tarafından da üretilebilir. Bu enzimler stromalizin, jelatinaz ve kollajenazdır.

MMP'ların etkisi; askorbat, sitrat, tetrasiklinler, sentetik peptitler, Na-EDTA, asetilsistein gibi pekçok ilaç tarafından değişik oranlarda inhibe edilir (23).

Tetrasiklinler, bakteriyel protein sentezini inhibe ederek etki gösteren geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Son yıllarda bazı araştırmacılar, tetrasiklinlerin, antibakteriyel etkileriyle ilişkili olmaksızın, antikollajenazik özellik gösterdiğini bildirmişlerdir (6, 7, 13, 15, 16, 17, 23, 27, 29). Kollajenaz ve diğer metalloproteinazlar, +2 yüklü metal iyonlarına (Ca, Zn, Mg) bağlandıktan sonra aktif hale geçerek, kollajen doku üzerinde yıkımlayıcı etki gösterirler. Tetrasiklinlerin, kalsiyum köprüsü aracılığı ile kollajenaza bağlanması, enzim- inhibitör kompleksi oluşumuna yol açar. Bu etki, doksisisiklinde daha belirgindir (7, 17, 23, 29). Tetrasiklinler, PMN lökosit aktivitesini de inhibe ederler (23, 29).

Frank ve ark. (7), yaptıkları bir çalışmada; tetrasiklin ailesinden tetrasiklin, minosiklin ve doksisisiklinleri, alkali hasarlarda parenteral olarak uygulamışlar ve bu gruptan en etkili olanını, doksisisiklin olarak saptamışlardır.

Golup ve ark. (16), 1987 yılında yaptıkları bir çalışmada, minosiklin ve modifiye tetrasiklin molekülünün, memeli kollajenazı üzerindeki inhibisyon etkilerini gözlemlemişlerdir.

Seedor ve ark. (29), tavşan kornealarına 11 mm çapında plastik çember yerleştirerek, 1 N NaOH'i 40 saniye süreyle alkali hasarı oluşturmak amacıyla uygulamışlar ve kullandıkları denekleri 3 gruba ayırmışlardır. Gruplardan birincisi kontrol grubu, ikincisi günde 10 mg/kg kas içi tetrasiklin uygulanan tedavi grubu, üçüncüsü de günde 50 mg/kg kas içi tetrasiklin uygulanan tedavi grubu olarak kullanılmıştır. Yirmisekiz günlük tedavi süresinin ardından; 3. gruba kontrol grubuna göre  $p < 0.001$  anlamlılık derecesinde, 3. gruba 2. gruba göre  $p < 0.01$  anlamlılık derecesinde tedavi yönünden etkili bulunmuşlardır.

Polisülfat glikozaminoglikan (PSGAG), sığır trahea kıkırdağından elde edilir (24). Bu bileşim lizozom, hiyaluronidaz ve proteazlar (plazmin ve plazminojen) gibi katabolik enzim miktarlarını azaltmaktadır. PSGAG'lar, prostaglandin E2 sentezini ve toksik süperoksidad radikallerini de azaltarak, yangı giderici etkiye katılabilmektedir. Bun-

lar sinoviyal membranlarda ve eklem kıkırdaklarında kollajen proteoglikanları ve hiyaluronik asit sentezini uyarırlar (24, 28).

William ve ark. (24), kornea ve eklem yüzeylelerinin benzer doku yapısında olmaları ve hasarlara verdikleri yanıtların benzerliğinden yola çıkarak, başkalarınınca alternatif sağaltım metodları uygulanmasına karşın, olumlu sonuç alınamamış 18 nüks edici korneal erozyonu olan köpekte, günde 3 kez, birer damla %5'lik PSGAG solüsyonunu lokal olarak kullanmışlar ve %83 oranında (18 hastada 14 iyileşme) başarı elde etmişlerdir.

EDTA, invitro bir çok divalent ve trivalent metallerin etkili bağlayıcısıdır. EDTA, kurşun gibi pek çok ağır metalleri bağlayabildiği gibi kalsiyum ve benzeri divalent katyonları da etkili biçimde bağlar (3). Biswell (4), bu etkisinden faydalanmak için Na EDTA'nın 0.01 molarlık solüsyonunun, kalsifik keratopatilerde kullanılabileceğini bildirmiştir. Crispin (10) ise EDTA'nın, alkali hasarlarından ya da Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonlarından sonra ortaya çıkan kollajenaz enziminin inhibisyonunda kullanılabileceğini vurgulamıştır.

Kern (21), derin ve progresif korneal ülserlerin sağaltımında Na EDTA'nın (0.15 M) 2 saat aralıklarla göze lokal olarak uygulanmasını tavsiye etmiş, ancak etki mekanizmasının belirsiz olduğunu bildirmiştir.

### Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada ağırlıkları 2-3 kg arasında değişen 40 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanların tamamına lokal anestezişiz Schirmer gözyaşı testleri uygulanıp sağ ve sol gözlerin normal gözyaşı miktarları kayıtlı edildi.

Çalışmada kullanılan tavşanların anestezisi; 10 mg/kg xylazine HCL'in (Rompun® 23. 32 mg/ml) intramuskuler enjeksiyonu ile sedasyonu takiben, 37.5 mg/kg ketamin HCl'ün (Ketalar® 50 mg/ml) intramuskuler uygulanmasıyla yapıldı.

Tüm gruplardaki tavşanların sağ kornealarına, sınırlı hasar oluşturmak amacıyla, 12 mm çapında bir metal çember yerleştirildi ve içerisine 0.5 ml 2 normal sodyum hidrokisit (2 N NaOH) damlatıldı. İki dakikalık bekleme süresinin ardından, çemberin içindeki alkali ajan önce bir enjektörle çekildi, daha sonra çemberin içi beşer kez izotonik sodyum klorür ile yıkandı. Çemberin kaldırılmasından sonra 2'şer dakika daha irrigasyona devam edildi. Tavşanların sol gözlerine ise korneanın merkezine 3'er damla 2 N NaOH solüsyonundan damlatıldı ve 2 dakikalık bekleme süresini takiben alkali ajandan etkilenmiş olan tüm oküler yüzey, izotonik sodyum klorür ile 2 dakika süre ile yıkandı.

Tavşanların sağ göz kornealarında sınırlı, sol gözlerinde ise tüm oküler yüzeyde (kornea ve konjunktiva dahil) alkali ajan hasarı oluşturulduğu gün, 0. gün kabul edildi. Bu uygulamayı takiben tüm gözler floresein ile boyanarak epiteliyal kayıp olan alanlarla ilgili notlar alındı ve klinik görünümünün fotoğrafı çekildi.

Denekler 10'arlı 4 gruba ayrıldı. Her gruptaki tavşanların tamamına, günde iki kez, sekonder enfeksiyonları engelleyip erime ülserinin etkilerini izlemek amacıyla gözlerine basitrasin- neomisin sülfat içeren antibiyotikli bir pomat (Thiocilline®) uygulandı.



Birinci grup kontrol olarak bırakıldı ve bunlara herhangi bir antikollajenazik ajan uygulanmadı. İkinci gruptaki deneklerin gözlerine sağaltım amacıyla yarı yarıya suni gözyaşı içerisinde dilüe edilen polisülfat glikozaminoglikan solüsyonundan, lokal olarak günde 3 kez 2'şer damla 21 gün boyunca uygulandı. Üçüncü gruba alkali ajan uygulandıktan 12 saat sonra, ağızdan 12 saatte bir, 10 mg/kg dozunda doksisisiklin (Tetradoks® kapsül 80 mg/1 kapsül) verildi. Bu uygulamaya 21. güne kadar devam edildi. Bu işlemi kolaylaştırmak için 2 ml serum fizyolojik içinde eritilen doksisisiklin, kanülsüz bir enjektöre çekildi ve deneklere içirildi. Dördüncü gruba, mililitresinde 0.015 mikrogram EDTA olan solüsyondan günde, 3 kez 2'şer damla göze lokal uygulandı. Bu uygulamaya da 21. güne kadar devam edildi.

Klinik seyri gözlemlenmek için, tavşanlar iki günde bir sistemik göz muayenesinden geçirildi. İlk bakıda kornea lezyonu derinliği tespit edilemeyen denekler, biyomikroskop ile detaylı incelemeye alınıp lezyon derinliği saptandı. Bütün tavşanlara 7, 14 ve 21. günlerde Schirmer gözyaşı testi uygulanarak değerler kayıt edildi. Kornea ve oküler yüzeyleri floresein ile boyandı. Epiteliumun durumu, vaskülarizasyon, limbal ve konjunktival bölgelerdeki değişimler, alt ve üst gözkapakları ile, 3. göz kapaklarının durumu ve korneal lezyonun derinliğine ilişkin değişimler saptanıp not edildikten sonra, fotoğrafları çekildi.

Korneadaki lezyonların derinliğinin değerlendirilmesi ve gruplar arası karşılaştırmanın yapılabilmesi için, derecelendirme sistemi uygulandı. Buna göre; sadece epiteliyal hasar olanlar 1, yüzlek ülserasyonu olanlar 2, derin ülseri olanlar 3, desementoseli olanlar 4 ve korneaları perfore olanlar 5 rakamıyla derecelendirildi. Gruplar arasında korneal lezyonların derinliği bakımından karşılaştırmaların yapılabilmesi için, her bir grup içinde lezyon derinliği derecelendirmelerinin ortalamaları alındı.

21. günde ötanazi edilen tavşanların her bir gözünden, limbal bölgeyi de kapsayacak şekilde kornea, konjunktiva ve 3. gözkapığından parçalar alınıp, histopatolojik muayene için tamponlanmış %10'luk formaldehit solüsyonunda saklandı. Örneklerin parafin blokları hazırlandıktan sonra, bloklar 5-6 mikron kalınlığında kesildi. Bütün kesitler rutin olarak Harris Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

Çalışma bulgularının istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığının tespiti için, varyans analizi yapıldı. Gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak ortaya konması amacıyla grupların kendi içlerinde Schirmer gözyaşı test miktarlarının ortalamaları ile korneal lezyon derecelerinin ortalaması, ANOVA testine tabi tutuldu.

## Bulgular

Sıfırıncı günler sağlıklı göz yapısına sahip 40 Yeni Zelanda tavşanının toplam 80 gözüne Schirmer gözyaşı testi uygulandığında, ortalama gözyaşı miktarı  $4,47 \pm 1,26$  mm/dk olarak tespit edildi. Dört guruba ait deneklerin 0, 7, 14 ve 21. günlerde ölçülen gözyaşı miktarları, Tablo 1, 2, 3 ve 4' de gösterilmiştir. Kontrol ve tedavi gruplarına ait deneklerin, 21 gün süresince gözyaşı miktarlarında gözlenen değişimlerin istatistik ola-

**Tablo 1.** Kontrol grupundaki deneklerin Schirmer gözyaşı miktarları (mm/dk). P= perforasyon

Kontrol grubu	0. gün		7. gün		14. gün		21. gün	
	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol
1 nolu denek	6	6	10	3	11	10	9	8
2 nolu denek	6	4	4	5	5	12 p	4 p	15 p
3 nolu denek	6	3	4	8	2	9	8	7
4 nolu denek	4	3	9	1	6	4	8	5
5 nolu denek	7	7	10	11	10	7	10	8
6 nolu denek	5	4	7	12	10	9	6	9
7 nolu denek	6	5	5	12	7	10 p	5 p	9 p
8 nolu denek	5	5	6	5	11	5 p	5	3 p
9 nolu denek	6	6	7	10	11	10	3 p	8
10 nolu denek	5	6	4	6	8	9	4	10
ortalama	5.6±0.26	4.7±0.47	6.6±0.76	7.3± 1.22	8.1±0.97	8.5±0.77	6.2±0.75	8.2±0.99

**Tablo 2.** PSGAG grupundaki deneklerin Schirmer gözyaşı miktarları (mm/dk). P= perforasyon

PSGAG grubu	0. gün		7. gün		14. gün		21. gün	
	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol
1 nolu denek	3	4	1	0	4	0	1 p	1
2 nolu denek	5	3	3	1	6	3	4	2
3 nolu denek	6	4	5	2	3	4	2	1
4 nolu denek	3	3	2	0	2	1 p	5	1 p
5 nolu denek	6	5	7	0	5	4 p	7	5 p
6 nolu denek	4	7	4	0	3 p	5 p	1 p	3 p
7 nolu denek	3	4	2	2	2	1 p	2	2 p
8 nolu denek	3	3	7	2	7	6	7	4
9 nolu denek	4	3	6	1	5	2	7	4
10 nolu denek	3	4	5	2	5	2	5	4
ortalama	4±0.39	4±0.39	4.2±0.67	1±0.29	4.2±0.53	2.8±0.61	4.1±0.78	2.7±0.47

**Tablo 3.** Doksisisiklin grupundaki deneklerin Schirmer gözyaşı miktarları (mm/dk). P= perforasyon

Doksisisiklin grubu	0. gün		7. gün		14. gün		21. gün	
	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol
1 nolu denek	4	4	5	7	10	5	1	4
2 nolu denek	7	6	7	6	1	6	2	8
3 nolu denek	3	7	5	6	7	7	1	4
4 nolu denek	5	5	6	4	3	3	4	5
5 nolu denek	4	5	7	4	6	2	2	6
6 nolu denek	4	7	6	1	4	7	0	4
7 nolu denek	3	4	7	7	7	4	1	2 p
8 nolu denek	5	3	5	2	8	2	6	1
9 nolu denek	6	6	5	2	7	2	7	7
10 nolu denek	4	3	6	5	6	5	2	4
ortalama	4±0.39	4±0.39	4.2±0.67	1±0.298	4.2±0.53	2.8±0.61	4.1±0.78	2.7±0.47

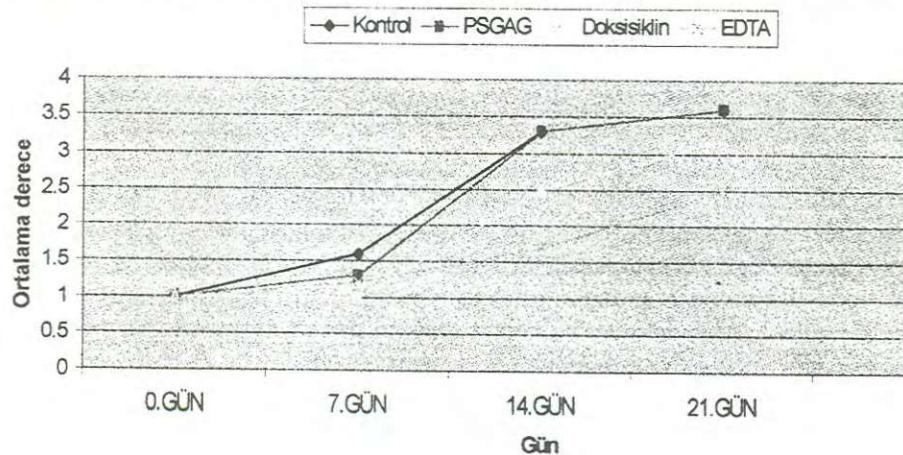


**Tablo 4.** EDTA grubundaki deneklerin Schirmer gözyaşı miktarları (mm/dk). P= perforasyon

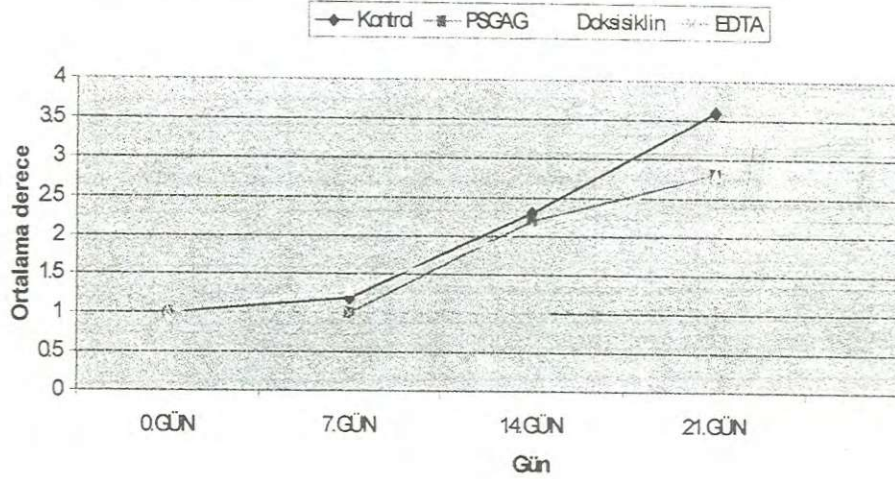
Na-EDTA grubu	0. gün		7. gün		14. gün		21. gün	
	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol
1 nolu denek	4	4	5	7	10	5	1	4
2 nolu denek	7	6	7	6	1	6	2	8
3 nolu denek	3	7	5	6	7	7	1	4
4 nolu denek	5	5	6	4	3	3	4	5
5 nolu denek	4	5	7	4	6	2	2	6
6 nolu denek	4	7	6	1	4	7	0	4
7 nolu denek	3	4	7	7	7	4	1	2 p
8 nolu denek	5	3	5	2	8	2	6	1
9 nolu denek	6	6	5	2	7	2	7	7
10 nolu denek	4	3	6	5	6	5	2	4
ortalama	4±0.39	4±0.39	4.2±0.67	1±0.298	4.2±0.53	2.8±0.61	4.1±0.78	2.7±0.47

rak anlam taşıyıp taşımadıklarının tespiti için, gruplar içinde 0, 7, 14 ve 21. günlerdeki ortalama gözyaşı miktarlarına varyans analizi (ANOVA test) uygulandı. Buna göre PSGAG grubunun ve EDTA grubunun 0 ve 7. günleri arasındaki azalmanın, istatistik olarak çok anlamlı olduğu ( $p<0.01$ ), diğer değişimlerin (artma ya da azalma) istatistik olarak anlamsız ( $p>0.05$ ) olduğu görüldü.

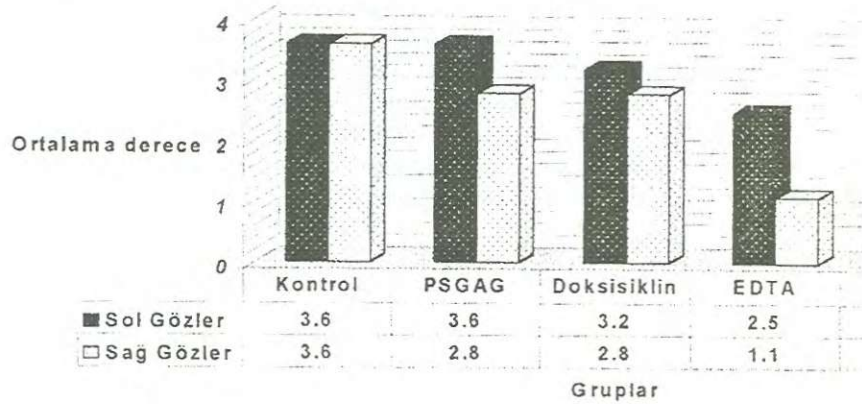
Tüm oküler yüzeyinde alkali hasar oluşturulan deneklerin kornea lezyonlarının günlere göre ortalama dereceleri Grafik 1'de, sadece korneasında alkali hasar oluşturulan deneklerin günlere göre ortalama dereceleri Grafik 2'de, yirmibirinci gün itibarıyla tüm grupların ortalama dereceleri Grafik 3'te gösterilmiştir. Sol gözler için 0, 7, 14, 21. günlerde her 4 gruptaki korneal lezyon derecesi ortalamalarına varyans analizi (ANOVA test) uygulandığında, elde edilen sonuçlara göre tedavi gruplarının etkileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Probabilite  $p>0.05$  olarak hesaplandı.

**Grafik 1.** Tüm oküler yüzeyinde alkali hasar oluşturulan deneklerin günlere göre ortalama dereceleri

Grafik 2. Sadece korneasında hasar oluşturulan deneklerin günlere göre ortalama dereceleri



Grafik 3. Yirmibirinci gün itibariyle tüm grupların ortalama dereceleri



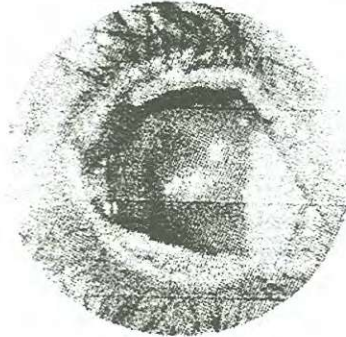
Sağ gözler için 0, 7, 14, 21. günlerde elde edilen her 4 gruptaki korneal lezyon derecesi ortalamalarına aynı test uygulandığında, elde edilen sonuçlara göre 0, 7, 14. günlerde tedavi gruplarının etkileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu günler için probabiliteler  $p > 0.05$  olarak hesaplandı. Yirmibirinci gün her 4 grubun korneal lezyon dereceleri ortalamalarında ise probabiliteler  $0.0006$  ( $p < 0.05$ ) olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildikten sonra, gruplar ikili karşılaştırmalara alındı. Buna göre kontrol grubu ile EDTA grubu arasındaki olumlu farkın istatistiksel olarak çok anlamlı ( $p < 0.01$ ), EDTA grubu ile PSGAG grubu ve EDTA grubu ile doksisisiklin grubu arasındaki farkın anlamlı ( $p < 0.05$ ) olduğu görüldü.



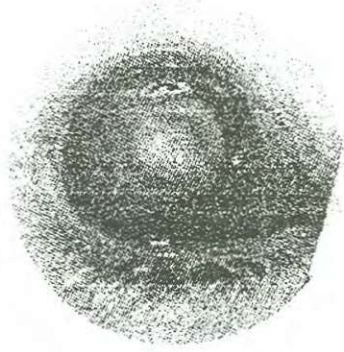
Genel olarak alkali ajanın kornealara uygulanması sırasında, ani bulanıklaşma şekillendi (Şekil 1). Tüm oküler yüzeye uygulanan deneklerde bu bulanıklık korneada yaygındı. Fotofobi, blefarospazm ve gözyaşı akıntısı gibi yangı belirtileri hemen hemen tüm deneklerde gözlemlendi. Günler içerisinde tüm oküler yüzeyi alkaliden etkilenen deneklerde, konjunktiva ve 3. göz kapaklarında şiddetli yangı hatta bazı deneklerde yer yer nekroz meydana geldi. Bu alanlar özellikle göz yaşının akış doğrultusu olan medial açıda daha belirgindi (Şekil 2). Bu deneklerin konjunktivalarında yer yer ekimozis alanları gözlemlendi. Ayrıca göz kapaklarının kenarlarında da günden güne daha belirgin hale gelen yıkımlanmalar tespit edildi. Sadece korneasında alkali hasar oluşturulan deneklerde, 7. günden itibaren belirgin vaskülarizasyon görüldü. Ancak tüm oküler yüzeyinde hasar olan deneklerde limbal işlemiden kaynaklanan bir vaskülarizasyon eksikliği dikkati çekti (Şekil 2). Kornea ülseri gelişen deneklerde, bu tablo genellikle 14-21. günler arası belirgin hale geldi (Şekil 3). Perforasyon olaylarının pek çoğu da bu dönemde gelişti. Tüm oküler yüzeyinde hasar oluşturulan deneklerin göz kapaklarında, lateral ve medial açıdan başlayan yapışmalar dikkati çekti ve 14-21. günler arasında bazı deneklerde göz kapaklarında daralma tespit edildi (Şekil 4).



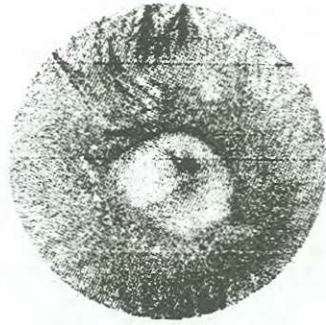
Şekil 1. Alkali hasarı oluşturulan bir deneğin korneasında gözlenen ani bulanıklık.



Şekil 2. Tüm oküler yüzeyinde alkali hasarı oluşturulmuş bir deneğin 7. günde korneasında gözlenen neovaskülarizasyon eksikliği ve özellikle medial açıda belirgin olan konjunktiva ve 3. gözkapığı nekrozu.



Şekil 3. Korneasında alkali hasarı oluşturulan bir deneğin 14. gün, korneasında belirgin hale gelen kornea ülseri ve neovaskülerizasyon tablosu.



Şekil 4. Tüm oküler yüzeyinde hasar oluşturulan bir deneğin 21. gün itibariyle perforé olmuş kornea ve daralmış göz kapaklarının klinik görünümü.

Histopatolojik bulguların, klinik tablo ile uyum gösterdiği görüldü. Yirmibirinci gün alınan histopatolojik örneklerde, korneal lezyonun derecesi 1 olan deneklerde epitelyum ve bunun temel membranında yıkımlanma gözlemlendi. Epitelyumun altında, hasar derecesine göre değişen oranlarda, ağırlıklı olarak PMN lökosit infiltrasyonu belirgindi. Korneal lezyonun derecesi 2 olan deneklerde, stromada yüzeysel yıkımlanma, 3 olan deneklerde stromanın 1/2'sinde yıkımlanma, 4 olan deneklerde desement membrana kadar olan yıkımlanma, 5 olan deneklerde ise hasarın şiddetine göre lokal perforasyondan, total erimeye kadar varan yıkımlanmalar gözlemlendi. 2, 3, 4, 5 olarak derecelendirilen deneklerde, hasarın derecesi arttıkça stromal kollajenlerin düzenli yapılanmasında artan bozulmalar tespit edildi. Lökosit infiltrasyonunun, hasarın derecesi arttıkça şiddetlendiği ve korneal dokuda daha geniş bir dağılım gösterdiği dikkati çekti. Korneaların içindeki hücreler ağırlıklı olarak PMN lökositleri içeriyordu. Endotelyum genellikle az ya da çok hasar görmüştü. Vaskülarizasyonun belirgin olduğu sağ gözlerde, epitelyumun ve stromanın içinde damarlaşmalar ve bunların içindeki kırmızı kan hücreleri belirgindi.



Alkaliden primer etkilenmemiş sağ konjunktivalarda, sol konjunktivalara göre daha aktif, hücrelerden ve vaskülarizasyondan zengin yangı tablosu dikkat çekiciydi. Alkaliden primer olarak etkilenen sol konjunktivalarda ise bu yangı tablosu, fibröz dokudan zengin ve daha zayıf karakterliydi. Sol konjunktivalarda epitelial hücrelerde daha şiddetli yıkımlanma vardı ve pek çok alanda total epitelial kayıp gözlendi. Sol konjunktivalardaki epitelial yıkımlanmalardan Goblet hücreleri de etkilendiği için, sağ gözlere göre çok az sayıda gözlenebildi. Varlığını koruyan epitelial hücrelerin vakuolizasyona uğradığı görüldü. Sağ konjunktivalarda ise yer yer yıkımlanmalar olmakla birlikte, genellikle bir kaç katlı sağlam epitelial doku tespit edildi. Konjunktival epiteliumun altındaki bağ dokuda, hasarın şiddetine göre artan oranda yangı hücreleri infiltrasyonu gözlendi. PMN lökositler belirgin olmakla birlikte, lenfositlerin yangı hücreleri kompozisyonunda baskın olduğu dikkati çekti. Sol konjunktivalarda bazı deneklerde, bu alanlarda da şiddetli yıkımlanmalar ve ağır yangı tablosu gözlendi. Sol konjunktivalarda yer yer işemi, nekroz, yer yer ekimoz alanları gözlendi. Bu dokuların vasküler gelişimlerinin zayıfladığı görüldü. Bağ dokusu içersindeki bez dokuları sağ konjunktivalarda belirgin ve kısmen hiperplazikti. Sol konjunktivalarda ise bunlar sayıca azalmış ve ancak birkaç tane görülebilecek duruma gelmişti. Bağ dokunun altındaki kaslar, sağ gözlerde belirgin ve düzenli iken, sol gözlerde kısalmış, düzensiz, atrofik bir form almıştı. En dışta, derideki kıl follikülleri sol göz kapaklarında gelişim bozukluğu gösterirken, deride hiperkeratoz ve akantomatoz hiperplazi dikkati çeken bulgulardı. Sağ göz kapaklarında ise epidermis içinde ve altında, hafif yangısal infiltrasyondan başka bir bozukluk gözlenmedi.

Sağ gözlerde 3. gözkapaklarında yangı tablosu hafifti. Lökosit infiltrasyonu genellikle belirgin yıkımlanma gözlenemeyen epiteliumun altında sınırlıydı. Konjunktival epiteliumun içinde Goblet hücreleri belirgindi. Kıkırdak yapısında ve bunun altındaki bez dokularında histolojik olarak anormal bir görünüm yoktu. Sol gözlerde ise 3. göz kapaklarının epiteliumunun tamamen ya da büyük oranda yıkımlanmış olduğu, bu yıkımlanmanın, altındaki bağ dokuda da pek çok denekte gözlenebildiği dikkati çekti. Goblet hücreleri epitelium ile beraber yıkımlanmış olmakla birlikte, kıkırdak ve bez yapılarında genellikle belirgin bir kayıp gözlenmedi.

Histopatolojik bulgular genel olarak değerlendirildiğinde; şiddetli yıkımlanmadan hafif yıkımlanmaya doğru, kontrol grubu, PSGAG grubu, doksisisiklin grubu ve EDTA grubu olarak sıralandı.

## T a r t ı Ő m a

Çalışmamızdaki deneklerin 1. gün sonrası yapılan klinik muayenelerinde önemli bulgular olarak; fotofobi, blefarospazm, gözyaşı akıntısı, konjunktiva hiperemisi gibi akut yangı belirtileri saptadık. Sadece kornealarında alkali hasar oluşturulan deneklerde vaskülarizasyon ve reepitelizasyonun diğerlerine göre çok hızlı ilerlediğini, limbal ve bulbar konjunktivalarında hasar oluşan deneklerde vaskülar ağ yıkımlanması nedeniyle sonradan neovaskülarizasyon şekillenmediğini gördük. Aynı durum literatür bilgilerinde de özellikle tüm oküler yüzeyde alkali hasar şekillenen hastalarda saptanarak reepitelizasyonun geçikmesi şeklinde açıklanmıştır (1, 8, 12, 23, 30).

Alkali kazalarında geç dönem komplikasyonları olarak bildirilen (2, 9, 20, 23, 25, 31) sikatrisyel entropiyon, ektropiyon, simblefaron gibi gözkapaklarını etkileyen olgularla karşılaştık. Bu durum özellikle 7. günden sonra giderek ilerleyen bir şekilde ortaya çıkmış, göz kapaklarının yuvarlak görünüm almasıyla sonuçlanmıştır. Bu bulgular, en belirgin kontrol grubunda olmak üzere, PSGAG, doksisisiklin ve EDTA grubunda giderek azalan şiddetle şekillenmiştir. Alkali ajanların penetrasyonunun süratli olması ve derin dokularda progresif yıkımlanma meydana getirmesi, bu bulguların nedeni olarak düşünülmüştür. Bu durum histopatolojik olarak da doğrulanmıştır. Bunun dışında, göz kapakları kenarlarında hiperkeratoz ve kontrol grubundaki bazı deneklerin sol göz kapaklarında akantömatöz hiperplazi de saptanmıştır.

Sıfırıncı gün oküler yüzeylerine 2 N NaOH uygulanan deneklerde oluşan bulanıklığın nedeni, araştırmacıların (1, 9, 10, 12, 20, 23, 25) belirttikleri gibi hücre membranı hidrasyonu ve lokal hücre ölümü nedeniyle şekillenmiştir.

Bazı çalışmalarda Goblet hücre popülasyonunun azaldığı, bazı çalışmalarda ise tersine arttığı bildirilmiştir (23). Biz de çalışmamızda tüm oküler yüzeyin alkali hasara uğradığı olgularda konjunktival epitelyumun yıkımlanma derecesine bağlı olarak Goblet hücrelerinde azalma ya da tamamen yok olma durumunu saptadık.

Reepitelizasyon açısından bakıldığında, 7. günde reepitelize olan alanlarda 14-21. günlerde yeniden korneal erozyon gelişmiştir. Histopatolojik olarak bu olgularda epitelyumun temel membranının yıkımlandığı ve 21. güne kadar rejenerasyon olmadığı görülerek bunun nedeninin temel membranda rejenerasyon olmaması ve dolayısıyla epitelin stromaya bağlanamaması olduğu düşünülmüştür. Benzeri çalışmalar yapan Matsuda ve ark. (22) korneada alkali hasar oluşturdukları olgularda epitelyum hücrelerinin yok olduğunu ya da dejenere olduğunu saptadıkları halde, Gartagaris ve ark. (14) tersine olarak temel membranda 1. günden 30. güne kadar süren yıkımlanma ve yok olma durumu gözlemlemişlerdir. 21. gün yapılan histopatolojik muayenelerde literatürlerdeki (5, 19, 22, 23) benzer şekilde hasar, yangı ve lezyonun derinliği ile ilgili olarak PMN lökosit artışı saptanmıştır. Konjunktivada saptanan aşırı lenfosit artışı bu dokunun lenfositlerden zengin lenfoid hücre kümeleri taşımaya nedeniyedir.

Sıfırıncı günlerde gruplara Schirmer gözyaşı testi uygulanarak, ortalama bir değer belirlenmiştir. 7, 14, 21. günlerde tüm grupların Schirmer gözyaşı testi değerlendirildiğinde, refleks gözyaşı miktarı ile ilgili, yapılan sağaltım ve günlere göre bir genelleme yapılamayacağı tespit edildi. Bu nedenle alkali hasar sonrası oküler yüzeyde ıslanma düzensizliklerinin artma ya da azalma şeklinde olabileceği (20) ve yine korneal ülserasyonların 7. günden sonra oluşacağı gözlemleri (14), bu çalışmanın bulgularıyla örtüşmektedir.

Tüm oküler yüzeylerinde hasar olan deneklerde, limbal işemi, nekroz şekillenmesi ve yüksek oranda yangı hücreleri oluşması, Brown ve ark. (5) belirttiği gibi neovaskülarizasyonla birlikte prekorneal gözyaşı tabakasının da bu hücreleri korneaya ulaştırabileceği bulgusunu destekler düzeydedir. Kornealarında alkali hasar oluşturulan gözlerde, 21. gün sonunda belirlenen lezyonun derinliği ve buna bağlı şekillenen perforasyon



oranı: çoktan aza doğru sırasıyla kontrol grubu, PSGAG, doksisiklin ve EDTA grubu, desementösel oranı ise en fazla kontrol grubu olmak üzere, doksisiklin, PSGAG ve EDTA grubu olarak saptanmıştır. Kullanılan ilaçların etkileri dikkate alındığında, PSGAG'ların antikollajenazik etkilerinin yetersiz olduğu görülmüştür.

1 N NaOH kullanılarak alkali hasar yaratılan çalışmada (29) sağaltım amacıyla yüksek doz ve i.m. doksisiklin uygulanan grub, diğer gruplara göre çok anlamlı etkili bulunmuştur. Biz bu çalışmada yüksek konsantrasyonda ve daha uzun sürede alkali ajan kullanmamızla korneada daha fazla hasar oluşması, ve ayrıca per os uyguladığımız doksisiklinin oküler yüzeyde yeterince etki gösterememesi nedeniyle doksisiklinin antikollajenazik etkisinin anlamlı olmadığını saptadık.

Çalışmamızda korneal hasar oluşturulan grubun EDTA ile sağaltımında derin ülser, desementösel ve perforasyon şekillenmemiştir. Bu nedenle antikollajenazik etkili olduğu bildirilen (3, 10, 21) EDTA'nın alkali hasarlı korneaların sağaltımında kullanımının yararlı olacağını düşünüyoruz.

### K a y n a k l a r

1. Arffa, R. C. (1997): Grayson's Diseases of the Cornea. 4. ed. Mosby, St. Louis, 690-707.
2. Asbury, T., Saninato, J. J. (1992): Trauma. In: Vaughan DG, Asbury T, Riordan P. General Ophthalmology: 13. Ed. Appleton and Lange, Connecticut, 363- 370.
3. Barragry, T. M. (1994): Veterinary Drug Therapy. Lea and Febiger, Philadelphia, 195-219.
4. Biswell, R. (1992): Cornea Bradoussa doksanik. In: Vaughan DG, Asbury T, Riordan P. General Ophthalmology: 13. ed. Appleton and Lange, Connecticut, 125-149.
5. Brown, S. I., Weller, C.A., Wassermann, H. E. (1969): Collagenolytic activity of alkali burned corneas. Arch. Ophthalmol., 81: 370-373.
6. Burns, F. R., Gray R. D., Paterson, C. A. (1990): Inhibition of alkali-induced corneal ulceration and perforation by thiol peptide. Invest. Ophth. and Vis. Scien., 31: 107-114.
7. Burns, F. R., Stack, M. S., Gray, R. D, Paterson, C. A. (1989): Inhibition of purified collagenase from alkali-burned rabbit corneas. Invest. Ophthal. Vis. Scien., 30: 1569-1575.
8. Champagne, E. S., Munger, R. J. (1992): Multiple punctate keratotomy for the treatment of recurrent epithelial erosions in dogs. JAAHA, 28: 213-216.
9. Christmas, R., (1991): Management of chemical burns of the canine cornea. Can. Vet. J., 32: 608-612.
10. Crispin, S. M. (1993): The pre-ocular tear film and conditions of the conjunctiva and cornea. In: Peterson SM, Crispin SM. Manual of small animal ophthalmology. In: BSAVA, Kingsley House, 137-171.
11. Donzis, P. B., Mondino, B. J. (1987): Management of noninfectious corneal ulcers. Survey of Ophthalmology, 32: 94-98.
12. Eagling, E. M., Roper-Hall, M. J. (1988): Eye Injuries. Gower Medical Publishing, London, 4.2-4.11.

13. **Gabler, W. L., Creamer, H. R. (1991):** Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J. Periodont. Res.*, 26: 52-58.
14. **Gartaganis, S. P., Margaritis, L. H., Koliopoulos, J. X. (1987):** The corneal basement membrane complexes after alkali burn: An ultrastructural study. *Ann. Ophthalmol.*, 19: 263-268.
15. **Golup, L. M., Lee, H.M., Lehrer, G., Nemiroff, A., Mcnamara, T. F., Kaplan, R., Ramamurthy, N. S. (1983):** Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes. *J. Periodont. Res.*, 18: 516-526.
16. **Golup, L. M., Ramamurthy, N., Mcnamara, T. F., Gomes, B., Wolff, M., Casino, A., Kapoor, A., Zambon, J., Ciancio, S., Schneir, M., Perry, H. (1984):** Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. *J. Periodont. Res.*, 19: 651-655.
17. **Golub, L. M., Mcnamara, T. F., D'angelo, G. D., Greenwald, R. A., Ramamurthy, N. S. (1987):** A non-antibacterialchemically-modified tetracycline inhibits mammalian collagenase activity. *J. Dent. Res.*, 66: 1310-1314.
18. **Gordon, J. M., Bauer, E. A., Eisen, A. Z. (1980):** Collagenase in human cornea. *Arch. Ophthalmol.*, 98: 341-345.
19. **Ishizaki, M., Zhu, G., Haseba, T., Shafer, S. S. (1993):** Expression of collagen 1, smooth muscle alfa-actin, and vimentin during the healing of alkali-burned and lacerated corneas. *Invest. Ophth. and Vis. Scien.*, 34: 3320- 3328.
20. **Kaufman, H. E., Barron, B. A., Mcdonald, M. B. (1998):** *The Cornea*. 2.ed. Butterworth-Heinemann, Boston, 642- 671.
21. **Kern, T. J., Diseases of the Cornea and Sclera. In: Birchard, S. J., Sherding, R. G. (1994):** Saunders Manual of Small Animal Practice. W. B. Saunders Company, London, 1197- 1207.
22. **Matsuda, H., Smelser, G. K. (1973):** Epithelium and stroma in alkali-burned corneas. *Arch. Ophthalmol.*, 89: 396-401.
23. **Micheal, D. W. (1997):** Chemical injuries of the eye: Current concepts in pathophysiology and therapy. *Survey of Ophthalmology*, 41: 275-307.
24. **Miller, W. W. (1996):** Using polysulfated glycosaminoglycan to treat persistent corneal erosions in dogs. *Veterinary Medicine*, 91: 916-922.
25. **Morgan, S. J. (1987):** Chemical burns of the eye: Causes and management. *British Journal of Ophthalmology*, 71: 854- 857.
26. **Morgan, S. J. (1987):** Chemical burns of the eye: Causes and management. *British Journal of Ophthalmology*, 71: 854-857.
27. **Perry, H. D., Golup, L. M. (1985):** Systemic tetracyclines in the treatment of noninfected corneal ulcers: A case report and proposed new mechanism of action. *Ann. Ophthalmol.*, 17: 742-744.
28. **Redding, W. R., Booth, L. C, Pool, R. R. (1999):** The effects of polysulphated glycosaminoglycan on the healing of collagenase induced tendinitis. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, 12: 48-55.
29. **Seedor, J. A., Perry hd., McNamara, T. F., Golup, L. M., Buxton, D. F., Guthrie, D. S. (1987):** Systemic tetracycline treatment of alkali-induced corneal ulceration in rabbits. *Arch. Ophthalmol.*, 105: 268-271.
30. **Shingleton, B. J., Hersh, P. S., Kenyon, K. R., Eye Trauma. In: Wagoner, M. D., Kenyon, K.R. (1990):** Chemical Injuries. In: St Louis, Mosby- Year Book, 345- 351.
31. **Stanley, J. A. (1965):** Strong alkali burns of the eye. *The New England Journal of Medicine*. 273: 1265-1266.